



RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 109 054** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁶ **C 12 N 1/20, A 23 C 9/12, A**
61 K 35/74

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 97105073/13, 01.04.1997

(46) Date of publication: 20.04.1998

(71) Applicant:
Moskovskij nauchno-issledovatel'skij
institut ehpidemiologii i mikrobiologii
im.G.N.Gabrichевского (RU),
Obshchestvo s ogranichennoj
otvetstvennost'ju "Bifi-Lajf" (RU)

(72) Inventor: Zhakevich Vladimir Dmitrievich[LV],
Ljannaja Alla Mikhajlovna[RU], Levchenko
Tat'jana Aleksandrovna[RU]

(73) Proprietor:
Moskovskij nauchno-issledovatel'skij
institut ehpidemiologii i mikrobiologii
im.G.N.Gabrichевского (RU),
Obshchestvo s ogranichennoj
otvetstvennost'ju "Bifi-Lajf" (RU)

(54) CONSORTIUM OF BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM 791, B LONGUM B379M, B BREVE 79-119, B INFANTIS 73-15, B ADOLESCENTIS G7513 FOR PREPARING LACTIC ACID NONFERMENTED FOODSTUFFS AND BACTERIAL PREPARATIONS

(57) Abstract:

FIELD: microbiology. SUBSTANCE: consortium is obtained by combination of the following five strains of bifidobacterium: B. bifidum 791, B. longum B379M, B. breve 79-119, B. infantis 73-15, and B. adolescentis G7513 exhibiting similar cultural and physiological-biochemical properties and showing fermenting capability also. Consortium multiplies actively on nutrient media and accumulates industrial biomass for short culturing periods.

Consortium ferments milk and forms clot showing good taste and organoleptic properties, shows specific activity. Ready product has \$\$\$ living bacteria/1 ml and one dose of preparation has \$\$\$ living bifidobacterium cells, not less. Consortium can be used for production of lactic acid curative-dietetic products, nonfermented foodstuffs and bacterial preparations. EFFECT: consortium indicated above, enhanced effectiveness. 2 tbl

RU 2109054 C1

RU 2109054 C1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 109 054** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁶ **C 12 N 1/20, A 23 C 9/12, A 61**
K 35/74

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 97105073/13, 01.04.1997

(46) Дата публикации: 20.04.1998

(56) Ссылки: FR, заявка 2336886, кл. C 12 N 1/20, 1977.

(71) Заявитель:

Московский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии
им.Г.Н.Габричевского (RU),
Общество с ограниченной ответственностью
"Бифи-Лайф" (RU)

(72) Изобретатель: Жакевич Владимир

Дмитриевич(LV),
Лянная Алла Михайловна(RU), Левченко
Татьяна Александровна(RU)

(73) Патентообладатель:

Московский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии
им.Г.Н.Габричевского (RU),
Общество с ограниченной ответственностью
"Бифи-Лайф" (RU)

(54) КОНСОРЦИУМ БИФИДОБАКТЕРИЙ BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM 791, B. LONGUM В 379 M, B. BREVE 79-119, B. INFANTIS 73-15, B. ADOLESCENTIS Г 7513 ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ, НЕФЕРМЕНТИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И БАКТЕРИЙНЫХ ПРЕПАРАТОВ

(57) Реферат:

Консорциум штаммов бифидобактерий пяти видов предназначен для приготовления кисломолочных, неферментированных пищевых продуктов и бактериальных препаратов. Консорциум получен сочетанием штаммов бифидобактерий B. bifidum 791, B. longum, B379M, B. breve 79-119, B. infantis 73-15, B. adolescentis Г7513, имеющих близкие культуральные и физиолого-биохимические свойства, а также обладающих сквашивающей активностью. Консорциум штаммов пяти видов бифидобактерий активно размножается в питательных средах с

накоплением производственной биомассы в короткие сроки культивирования. Скваживает молоко с образованием сгустка с хорошими вкусовыми и органолептическими свойствами, обладает специфической активностью. Консорциум штаммов рекомендован в составе заквасок для приготовления кисломолочных лечебно-диетических продуктов, неферментированных пищевых продуктов и бактериальных препаратов. Готовый продукт содержит в 1 мл 10^9 живых бактерий. В 1 дозе препарата не менее 10^7 живых клеток бифидобактерий. 2 табл.

RU 2 109 054 C1

RU 2 109 054 C1

Изобретение относится к медицинской микробиологии и представляет собой консорциум штаммов бифидобактерий пяти видов, который может быть использован для приготовления кисломолочных, неферментированных пищевых продуктов и бактериальных препаратов.

Препараты и продукты, содержащие в своем составе бифидобактерии, предназначены для нормализации микробиотенноза кишечника людей, страдающих дисбактериозом, возникшим в результате неблагоприятных экологических условий, стрессовых влияний, перенесенных кишечных заболеваний, длительной антибиотикотерапии, лучевой и химиотерапии.

Известны зарубежные моно- и комплексные препараты-зубиотики и кисломолочные продукты, включающие в свой состав бифидобактерии видов *B.bifidum*, *B. longum*, *B.adolescentis*, *B.breve* (Франция, патенты 2336886, 2411008; Швейцария патент 637297; ФРГ патенты 2134179, 2421066; Япония патенты 05227946, 0430642 США патент 4645667).

У нас в стране для приготовления бактериальных препаратов и продуктов лечебно-диетического питания, применяют отечественные штаммы бифидобактерий видов *B. bifidum* N 1,791, *B.longum* B379M, *B.adolescentis* MC-42 (SU авт. св. 343588, патенты 1347221, 849779, 863639).

В кишечнике человека встречаются 5 видов бифидобактерий - *B.bifidum*, *B. longum*, *B.adolescentis*, *B.breve* и *B.infantis*. С наибольшей частотой обнаруживаются виды *B.bifidum*, *B.longum* и *B.adolescentis* (39-75%), причем два последних преобладают у взрослых людей. У детей грудного возраста в 30% случаев встречаются и бифидобактерии видов *B.breve* и *B.infantis*.

Целью настоящего изобретения является получение консорциума штаммов бифидобактерий, обладающих комплексом свойств, присущих отдельным штаммам, способный более быстро приживляться в кишечнике, обладающий повышенной специфической активностью и способствующий нормализации микрофлоры кишечника в более ранние сроки.

Консорциум получен путем сочетания штаммов пяти видов бифидобактерий: *B. bifidum* 791, *B.longum* B379, *B.breve* 79-119, *B.infantis* 73-15, *B.adolescentis* Г7513, имеющих близкие культуральные и физиологобиохимические свойства, а также обладающих сквашивающей активностью.

Штамм *B.bifidum* 791 выделен из содержимого кишечника здорового грудного ребенка, депонирован в ВНИИгенетика в ЦМПМ под N В-3300.

Штамм *B.longum* B379M выделен из содержимого кишечника здорового взрослого человека, депонирован в ВНИИгенетика в ЦМПМ под N В-2000.

Штамм *B.breve* 79-119 выделен из содержимого кишечника здорового грудного ребенка, депонирован под N 153 в ГКНМ МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского.

Штамм *B.infantis* 73-15 выделен из содержимого кишечника здорового грудного ребенка, депонирован под N 155 в ГКНМ МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского.

Штамм *B.adolescentis* Г7513 выделен из

содержимого кишечника здорового взрослого человека, депонирован под N 158 в ГКНМ МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского.

Культурально-морфологические признаки консорциума.

5 Клетки штаммов бифидобактерий представляют собой грам+ полиморфные палочки с бифуркацией или утолщением на 1-2-х концах, склонные к образованию скоплений. В жидких питательных средах растут по всей высоте объема, кроме зоны аэробноза. Логарифмическая фаза роста заканчивается к 24 ч.

10 Физиолого-биохимические признаки консорциума.

Неподвижные, бесспорные анаэробы. 15 Оптимальная температура выращивания 37,5 - 38°C, pH питательных сред 7.2 - 7.4. Каталазу не образуют, желатину не разжижают. Сбраживают глюкозу с образованием уксусной и L+ молочной кислоты без образования газа, закисляя среду выращивания до pH 4.1 - 3.9. Видовая принадлежность каждого из штаммов определена в соответствии с их ферментативной активностью. Штаммы сквашивают молоко к 24 ч культивирования.

25 Штаммы активно наращивают микробную массу на средах разного состава и сквашивают молоко к 24 ч культивирования, накапливая определенное количество кислот (табл.1).

30 Консорциум штаммов активно размножается на средах разного состава, к 24 ч культивирования, достигая в 1 мл lg 8,9 - 9,3; сквашивают молоко с высокой концентрацией бифидобактерий, что является основным показателем возможности использования штаммов в технологическом процессе.

35 Продуцируя кислоты, консорциум штаммов пяти видов бифидобактерий ингибирует рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (табл. 2).

40 Способность консорциума штаммов пяти видов бифидобактерий наращивать микробную массу в питательных средах, сквашивать молоко в короткие сроки, проявлять специфическую активность делает возможным его использование в приготовлении кисломолочных, неферментированных пищевых продуктов и бактериальных препаратов.

45 Пример 1. Использование консорциума штаммов бифидобактерий в составе закваски для приготовления кисломолочных продуктов.

50 1-й пассаж. Лиофилизированные штаммы *B.bifidum* 791, *B.longum* B379M, *B. infantis* 73-15, *B.breve* 79-119, *B.adolescentis* Г7513 в количестве 0,1 г сухой биомассы (1 доза) вносят каждый отдельно в среду выращивания (печеночную, тиогликолевую, кукурузно-лактозную) и титруют методом десятикратных разведений до 10⁻⁷⁻⁸.

55 Выращивают 48 - 72 ч при 37,5 - 38°C. 2-й пассаж. Выросшую культуру каждого из штаммов в объеме 5-10% вносят в среду накопления и культивируют 16-24 ч при 37,5 - 38°C.

60 3-й пассаж. Полученную биомассу (консорциум) в объеме 5% вносят в стерильное молоко и культивируют 12-16 ч при 37,5-38°C.

4-й пассаж производственная закваска.

Лабораторную закваску в объеме 5% вносят в больший объем стерильного молока и культивируют 12-16 ч при 37,5 - 38°C.

Получение продукта. Полученную производственную закваску в объеме 5% вносят в пастеризованное молоко и культивируют 4 - 5 ч, после чего продукт охлаждают и сливают. В результате получают готовый продукт с нежным кисломолочным вкусом густой однородной консистенции с содержанием в 1 мл 10^9 живых бифидобактерий.

Пример 2. Использование консорциума штаммов бифидобактерий в составе закваски для приготовления неферментированных пищевых продуктов.

1-ый пассаж. Лиофилизированные штаммы *B.bifidum* 791, *B.longum* B379M, *B.infantis* 73-15, *B.breve* 79-119, *B.adolescentis* Г7513 в количестве 0,1 г сухой биомассы (1 доза) вносят каждый отдельно в среду выращивания (печеночную, тиогликолевую, кукурузно-лактозную) и титруют методом десятикратных разведений до 10^{-7-8} .

Выращивают 48 - 72 ч при 37,5 - 38°C.

2-ой пассаж. Выросшую культуру каждого из штаммов в объеме 5-10% вносят в среду выращивания и культивируют 16-24 ч при 37,5-38°C.

3-ий пассаж. Полученную биомассу (консорциум) в количестве 5% вносят в среду накопления большего объема и культивируют 16-24 ч при 37,5 - 38°C.

Получение продукта. Выросшую закваску вносят в пищевое сырье (молоко, соки, пиво, и пр.), перемешивают и разливают в емкости. В результате получают продукт с общей концентрацией синантропной бифидофлоры не менее 1 млн/мл.

Пример 3. Использование консорциума штаммов бифидобактерий для получения бактериального препарата.

Штаммы *B.bifidum* 791, *B.longum* B379M, *B.infantis* 73-15, *B.breve* 79-119, *B.adolescentis* Г7513 1-2-3 его пассажей культивируют при 37,5-38°C и при pH 7,2-7,4

в течение 16-24 ч. К выращенной биомассе консорциума добавляют защитные среды высушивания (сахароза 80% и желатина 8% в объеме 10-12%, обезжиренное молоко до 20%). Полученную суспензию разливают по 2 мл в ампулы или по 5 мл в пенициллиновые флаконы, замораживают при -40 - -45°C и лиофилизируют из замороженного состояния в вакуум-сушильных аппаратах. Полученный препарат содержит 10^{7-8} живых клеток бифидобактерий. Согласно НТД на сухой бифидумбактерин (ФС 42-1.32 ВС 94) допускается содержание в 1 дозе препарата не менее 10^7 живых клеток бифидобактерий.

Таким образом, предлагаемый консорциум штаммов пяти видов бифидобактерий активно размножается в питательных средах с накоплением производственной биомассы в короткие сроки культивирования; сквашивает молоко с образованием сгустка с хорошими вкусовыми и органолептическими свойствами; обладает специфической активностью.

Консорциум штаммов можно рекомендовать в составе заквасок для приготовления кисломолочных лечебно-диетических продуктов, неферментированных пищевых продуктов и бактериальных препаратов.

Формула изобретения:

Консорциум штаммов бифидобактерий пяти видов *Bifidobacterium bifidum*, коллекционный номер В-3300 ЦМГПМ ВНИИгенетика, *Bifidobacterium longum*, коллекционный номер В-2000 ЦМГПМ ВНИИгенетика, *Bifidobacterium breve*, коллекционный номер 153 Государственной коллекции микроорганизмов - представителей нормальной микрофлоры человека ГКНМ МНИИЭМ им.Г.Н.Габричевского, *Bifidobacterium infantis*, коллекционный номер 155 в ГКНМ МНИИЭМ им.Г.Н.Габричевского, *Bifidobacterium adolescentis*, коллекционный номер 158 ГКНМ МНИИЭМ им.Г.Н.Габричевского, используемый для получения кисломолочных продуктов лечебно-диетического питания, неферментированных пищевых продуктов и бактериальных препаратов.

Таблица 1

Накопление микробной биомассы и активность кислотообразования консорциума штаммов на средах разного состава к 24 часам культивирования

Питательные среды	Количество микробных клеток бифидобактерий в 1 мл (lg 10)	Количество продуцируемой кислоты (в градусах Тернера)
Кукурузнолактозная	8,9	190
Гидролизатномолочная	9,3	192
Молоко 3%	9,69	160
Молоко 5%	9,9	164

Таблица 2

Продукт	Зоны задержки роста тест-культуры (мм)				
	Sh. sonnei	Sh. flexneri	E. coli	S. aureus	Pr. vulgaris
С консорциумом штаммов бифидобактерий	36,0	37,5	34,2	33,7	35,0

RU 2109054 C1

RU 2109054 C1